



## Avaliação da Toxicidade Aguda Oral e da Atividade Diurética da *Rudgea viburnoides* (Cham.) Benth. (congonha-de-bugre)

Liuba L. PUCCI<sup>1</sup>, Luiz C. da CUNHA<sup>1\*</sup>, Leonice M. TRESVENZOL<sup>2</sup>, José R. de PAULA<sup>2</sup>,  
Marize C.V. BOZINIS<sup>3</sup> & Paulo C.M. de FREITAS<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Núcleo de Estudos e Pesquisas Tóxico-Farmacológicas (NEPET-UFG),

<sup>2</sup> Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais (LPPN) e

<sup>3</sup> Laboratório de Toxicologia e Farmacologia Celular (LTFC) da Faculdade de Farmácia,  
Universidade Federal de Goiás, Praça Universitária com 1ª Avenida, Qd. 62, S/Nº,  
Setor Universitário, Goiânia-Goiás, 74605-220.

**RESUMO.** *Rudgea viburnoides* é utilizada popularmente como diurética, hipotensora, antirreumática, antissifilítica, depurativa do sangue e tratamento da dispepsia. Este trabalho teve como objetivos avaliar a toxicidade aguda e a atividade diurética do extrato etanólico bruto (EEBFRV) das folhas da *R. viburnoides*. Na toxicidade aguda empregou-se o teste de Classe, nas doses de 2000 e 5000 mg/kg, dose única, gavagem, em camundongos *Swiss* e ratos *Wistar* (ambos os sexos). Na atividade diurética administraram-se em ratos *Wistar* o extrato bruto (40, 80 e 160 mg/kg, furosemida 20 mg/kg (controle +) e solução salina 0,9% (controle -). Não houve letalidade ou sinais de intoxicação, indicando baixa toxicidade desse extrato. O efeito diurético foi dose-dependente nas 24 h, com aumento dos parâmetros: volume de urina 24 h, excreção dos eletrólitos sódio, potássio e cloreto, uréia e creatinina. Os resultados até o momento, podem justificar a sua utilização popular como diurética.

**SUMMARY.** "Evaluation of Acute Oral Toxicity and Diuretic Activity of *Rudgea viburnoides* (Cham.) Benth. (congonha-de-bugre)". *Rudgea viburnoides* is popularly used as anti-hypertensive, anti-rheumatic, antissifilic, blood purative and for treatment of dyspepsia (leaves, bark, tea). The acute toxicity of ethanolic extract (EEBFRV) in single dose was performed by gavage of doses of 2000 and 5000 mg/kg in *Swiss* mice and *Wistar* rats, both sexes, by the class test. To diuretic activity in *Wistar* rats, it was used the EEBFRV at the doses of 40, 80 and 160 mg/kg, furosemide 20 mg/kg (control +), and saline solution 0.9 % (control -). Regarding acute toxicity, no mortality and no toxicity signs at the dose levels were observed, indicating low toxicity of the extract. The EEBFRV showed statistically significant dose-dependent diuretic effect in 24 h, increasing all parameters evaluated (24h urine volume, excretion of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> electrolytes, urea (BUN) and creatinine). Thus, the results so far may justify the popular use of *Rudgea viburnoides* as diuretic.

### INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são importantes por sua contribuição como fonte natural e potencial de fármacos, de candidatos a fármacos, bem como de fitoterápicos<sup>1</sup>. As plantas com atividade diurética apresentam a propriedade de eliminar líquidos do organismo, ajudando na desintoxicação dos rins e no tratamento de infecções urinárias. Além disso, são indicadas para combater o envelhecimento, na congestão linfática, na prevenção de doenças de pele, entre outras<sup>2</sup>. Relatos sobre atividade diurética de plantas medicinais estão descritos na literatura, destacando-se *Phyllanthus niruri*<sup>3,4</sup>, *Palicourea coriacea*<sup>5</sup>,

*Equisetum arvensis*<sup>6</sup> e *Echinodorus macrophyllum*<sup>7</sup>.

A espécie *Rudgea viburnoides* (Rubiaceae) conhecida como "congonha", "congonha-de-bugre" ou "bugre", é bastante comum no cerrado brasileiro, sendo as folhas e as cascas utilizadas tradicionalmente no Brasil, sob a forma de chá, como antirreumática, antissifilítica, no tratamento da dispepsia<sup>8</sup>, e como diurética, hipotensora e depurativa do sangue<sup>9,10</sup>.

Poucos estudos sobre a *R. viburnoides* foram encontrados na literatura pesquisada. Alves *et al.*<sup>11</sup> realizaram a prospecção fitoquímica e o perfil cromatográfico por cromatografia em ca-

**PALAVRAS CHAVE:** Atividade diurética, Plantas medicinais, *Rudgea viburnoides*, Toxicidade aguda.

**KEY WORDS:** Acute toxicity, Diuretic activity, Medicinal plants, *Rudgea viburnoides*.

\* Autor a quem correspondência deve ser enviada: E-mail: lucacunha@gmail.com

mada delgada (CCD) e observaram a presença de taninos, flavonóides, triterpenos, esteróis e saponinas. Os alcalóides, comuns em espécies da família Rubiaceae, tais como a ipeca (*Psychotria ipecacuanba* (Brot.) Strokes), a quina (*Cinchona spp*) e a unha-de-gato (*Uncaria tomentosa* DC), não foram detectados nas folhas de *R. viburnoides*. Young *et al.*<sup>8</sup>, isolaram e identificaram dos frutos da *R. viburnoides*, o triterpeno, viburgenina, as saponinas arjunglucosideo I e traquelosperosídeos B-1 e E-1, e os triterpenos traquelosperogenina B e arjungenina. Esses pesquisadores verificaram que a viburgenina exibiu moderada atividade antifúngica contra *Cladosporium cladosporioides*.

Do ponto de vista toxicológico, deve-se considerar que uma planta medicinal ou um fitoterápico não tem somente efeitos imediatos e facilmente correlacionados com a sua ingestão, mas que os efeitos podem se manifestar em longo prazo e de forma assintomática, como os carcinogênicos, hepatotóxicos e nefrotóxicos<sup>12,13</sup>.

Tendo em vista a utilização popular de *R. viburnoides* no tratamento de várias enfermidades, objetivou-se neste estudo avaliar a toxicidade aguda oral e a atividade diurética de *R. viburnoides*, verificando assim dois aspectos que contribuem para o estabelecimento de parâmetros de segurança e de confirmação de efeito farmacológico em animais, com possibilidade de extrapolação para a sua utilização popular.

## MATERIAL E MÉTODOS

### **Coleta, identificação e herborização da planta**

Folhas de *R. viburnoides* foram coletadas em Silvânia - GO, (16°, 38' 33,3" sul, 48° 39' 07" oeste, 950 m altitude). O material botânico foi identificado pelo Professor Dr. José Realino de Paula, da Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás (UFG) sendo uma exsiccata depositada no Herbário da UFG sob número UFG-24328. As folhas foram secas a 40 °C em estufa com circulação de ar forçada, por 72 h e trituradas em moinho de facas, obtendo-se 1700 g de pó.

### **Preparação do extrato etanólico bruto**

O extrato etanólico bruto das folhas de *R. viburnoides* (EEBFRV) foi obtido por maceração em etanol 95% (PA) na proporção 1:5, sob agitação por 4 h, seguido de filtração. A extração foi repetida por mais duas vezes para garantir o esgotamento das substâncias extraíveis pelo etanol. O solvente foi evaporado em rotaevapora-

dor a 40 °C sob pressão reduzida, obtendo-se 163 g de EEBFRV.

## **Animais**

O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás, sob o protocolo no 057/07. Foram utilizados para os experimentos ratos *Wistar* e camundongos Swiss, de ambos os sexos (fêmeas nulas e não grávidas), provenientes de colônias mantidas no Laboratório de Ciências da Saúde do Centro Universitário de Brasília-DF (UNICEUB). Os animais eram adultos jovens com 8 a 10 semanas de idade e o peso variando de 150 a 200 g para os ratos e 20 a 25 g para os camundongos. Os animais passaram por um período de aclimação de cinco dias antes do início dos experimentos. Os experimentos foram realizados no NEPET (Núcleo de Estudos e Pesquisas Tóxico-Farmacológicas/UFG) sob condições ambientais controladas (temperatura ambiente de 23 ± 2 °C, umidade relativa do ar de 50–70% e ciclo claro/escuro de 12 h), com água e ração *ad libitum*. Os animais foram privados de alimento 4 h antes do início dos testes, sendo mantida a oferta de água. A ração foi restituída 2 h após a administração do extrato.

O EEBFRV foi solubilizado em salina (0,9%) e administrado aos animais em dose única por via oral (gavagem). O volume administrado aos animais não excedeu a 1 mL/100 g de peso corporal.

### **Teste de toxicidade aguda dose única – Teste de classe (OECD 423)**

O teste de toxicidade aguda foi realizado segundo protocolo experimental Guideline 423<sup>14</sup> e desenvolvido seguindo normas de cuidados com animais de laboratório e de bem estar e biossegurança na experimentação animal propostas pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório/Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e outros autores<sup>15,16</sup>.

Os ratos e camundongos foram divididos de forma aleatória, respeitando o sexo, em grupo de três animais por caixa para cada dose, iniciando-se com 2000 mg/kg e, depois, com uma dose maior, de 5000 mg/kg.

Observações comportamentais sistemáticas foram realizadas de acordo com o *screening* hipocrático: atividade geral, frênto vocal, irritabilidade, resposta ao toque, resposta aperto cauda, contorção, posição trem posterior, reflexo endireitamento, tonus do corpo, força para agarrar, ataxia, reflexo auricular, reflexo corneal, tremo-

res, convulsões, *straub*, hipnose, anestesia, lacrimação, ptose, micção, defecação, piloereção, hipotermia, respiração, cianose, hiperemia, morte, realizadas a intervalos variados logo após a administração da droga (10 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 12 h e 24 h) e periodicamente até o 14º dia. A intensidade dos eventos foi semi-quantificada de zero a 4, correspondendo, respectivamente a: ausente, raro, pouco, moderado e intenso de acordo com o modelo proposto por Malone & Robichaud <sup>17</sup> e Malone <sup>18</sup>.

No 14º dia, todos os animais foram anestesiados com solução de xilazina-cetamina 0,2 mL/100 g (8,75 mL de cetamina (100 mg/mL) e 1,25 mL de xilazina (100 mg/mL), conforme protocolo da Cornell University/Cornell Center for Animal Resources and Education <sup>19,20</sup>, e sacrificados por deslocamento cervical. Em seguida, foi realizada a necropsia com avaliação geral dos órgãos e retirada do fígado e rins para análise macroscópica.

#### **Teste de avaliação da atividade diurética**

A avaliação da atividade diurética foi realizada segundo Lahlou <sup>21</sup> com modificações. As ratas foram distribuídas de forma aleatória em gaiolas semi-metabólicas individuais e organizadas em cinco grupos (n = 5). Antes do início da administração dos extratos (fase de pré-tratamento) o consumo de água e excreção de urina foi monitorado para verificação da homogeneidade destes parâmetros.

Três grupos foram tratados com solução salina do EEBFRV em dose única de 40 mg/kg, 80 mg/kg e 160 mg/kg respectivamente, um grupo foi tratado com solução de furosemida 20 mg/kg (controle positivo) e outro grupo com solução salina 0,9% (controle negativo).

A coleta de urina foi realizada nos intervalos: 1, 2, 4, 6, 8, 12 e 24 h após a administração dos tratamentos. O volume de urina e o consumo de água foram monitorados nesses mesmos intervalos. Análises físico-químicas foram realizadas nas amostras parciais e na urina de 24 h. Os parâmetros analisados foram: pH, densidade, nitratos, proteínas, glicose, cetonas, urobilinogênio, bilirrubina e hemoglobina (fita reagente Accu-Tell). Essas amostras também foram submetidas a dosagens bioquímicas visando quantificar os eletrólitos sódio, potássio (fotometria de chama, Fotômetro de chama Celm), cloro (colorimetria, Kit Labtest) e os analitos uréia (U) e creatinina (C) (método enzimático, kit Laborclin em equipamento automatizado Autolab).

Ao final do experimento, todos os animais

foram anestesiados com solução de xilazina-cetamina 0,2 mL/100g (8,75 mL de cetamina (100 mg/mL) e 1,25 mL de xilazina (100 mg/mL), conforme protocolo da *Cornell University/Cornell Center for Animal Resources and Education* <sup>19,20</sup>, e sacrificados por deslocamento cervical. Realizou-se a necropsia com avaliação geral dos órgãos e retirada do fígado, rins e baço para análise macroscópica.

#### **Análise estatística**

Para análise dos dados obtidos nos testes, os parâmetros foram expressos na forma de média  $\pm$  desvio padrão das médias (DP). Aplicou-se análise de variância (ANOVA) seguida pelo Teste de Dunnett e Teste t de Student não pareado, utilizando-se o software *Origin Pro 7.5*. Consideraram-se diferenças significativas para  $p < 0,05$  (IC95%).

### **RESULTADOS**

#### **Avaliação da toxicidade aguda oral**

Não foram observadas mortes ou sinais de toxicidade nos ratos e nos camundongos tratados com EEBFRV nas doses de 2000 mg/kg e posteriormente 5000 mg/kg. Após a necropsia nenhuma alteração foi observada, em nível macroscópico, nos órgãos analisados. Também não foram detectadas diferenças de sensibilidade entre as espécies e entre os machos e fêmeas da mesma espécie.

#### **Avaliação da atividade diurética**

As médias dos volumes de ingestão hídrica e produção de urina no período de 24 h, que antecedeu à realização do experimento (fase pré-tratamento) Tabela 1, foram similares aos observados por Agunu *et al.*, (2005) <sup>22</sup>, Benjumea *et al.*, (2005) <sup>2</sup>, Lahlou *et al.*, (2006) <sup>21</sup> (Valores de referência - Consumo hídrico / 24 h: 24 a 35 mL. Produção urinária / 24 h: 2 a 15 mL/24 h).

Verificou-se que, após o tratamento, o volume de ingestão hídrica aumentou em todos os grupos, quando comparados com os valores basais. A administração do EEBFRV nas doses de 40, 80 e 160 mg/kg, promoveu um aumento da taxa de ingestão hídrica em relação à salina, de 38,55 a 58,3%. Observou-se também que a administração do EEBFRV nas doses de 40 e 80 mg/kg promoveu uma ingestão hídrica similar à da furosemida ( $67 \pm 4,47$  mL), enquanto que para a dose de 160 mg/kg a ingestão hídrica foi superior a da furosemida (Tabela 2).

No experimento pode-se verificar que, tanto a furosemida (20 mg/kg), quanto o EEBFRV nas

GRUPO (n=5)	Volume de ingestão hídrica, mL (Média ± DP)	Produção de urina, mL (Média ± DP)
Furosemida 20 mg/kg	35,8 ± 5,675	11,26 ± 2,046
Salina	34,4 ± 4,159	11,9 ± 1,084
EEBFRV 40 mg/kg	36 ± 2,915	10,74 ± 1,880
EEBFRV 80 mg/kg	35,8 ± 2,280	10,66 ± 1,024
EEBFRV 160 mg/kg	35,2 ± 5,541	11,98 ± 1,006
Média ± DP	35,44 ± 0,6549	11,31 ± 0,6219
(CV %)	(1,85 %)	(5,5 %)

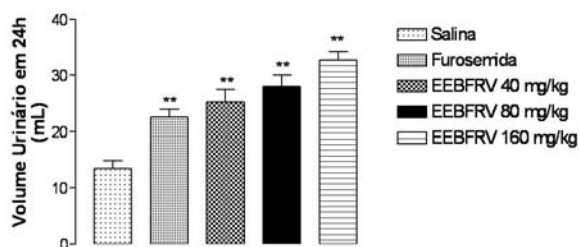
**Tabela 1.** Volume de ingestão hídrica e produção de urina, no período de 24 h antes da realização do experimento (valores basais), nos grupos dos animais de experimentação (n = 5; Média ± DP). Não houve diferença estatística (p > 0,05) (ANOVA, teste de Dunnett). CV% = coeficiente de variação percentual.

GRUPO	Volume ingestão hídrica pós-teste (Média ± DP)	Volume ingestão hídrica pós-teste (% em relação à salina)
Furosemida	67 ± 4,47*	134,53*
Salina	49,8 ± 8,25	100
EEBFRV 40 mg/kg	69 ± 7,41*	138,55*
EEBFRV 80 mg/kg	69,9 ± 11,9*	140,36*
EEBFRV 160 mg/kg	79 ± 7,41*	158,63*

**Tabela 2.** Volume de ingestão hídrica nos grupos tratados com furosemida, salina e EEBFRV, no período de 24 h após a administração. (n = 5; Média ± DP). \*Estatisticamente significativo em relação ao grupo da salina (p < 0,01) (ANOVA, teste de Dunnett).

diferentes doses (40, 80 e 160 mg/kg), apresentaram um acentuado potencial diurético em relação a salina (Figs. 1 e 2). É interessante salientar que o grupo tratado com a dose de 160 mg/kg apresentou um efeito diurético 45% superior ao da furosemida (Teste t não pareado, p = 0,0012).

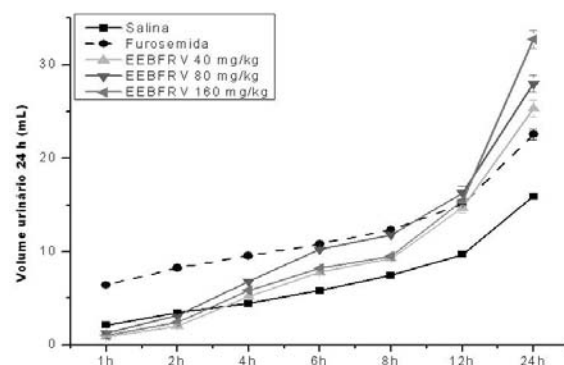
Analisando as dosagens dos eletrólitos sódio (Na<sup>+</sup>), potássio (K<sup>+</sup>) e cloreto (Cl<sup>-</sup>) observou-se que a furosemida promoveu maior eliminação desses analitos (Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup>) à partir da primeira hora pós-administração, enquanto para o EEBFRV essa eliminação foi dose-dependente,



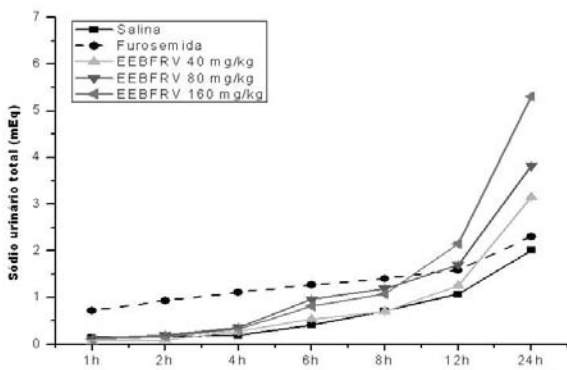
**Figura 1.** Volume de excreção urinária em 24 h, após administração oral nos grupos em estudo. Valores expressos em média ± DP (n = 5). \*\*Estatisticamente significativo em relação à salina (p < 0,05), (ANOVA, teste de Dunnett). EEBFRV = extrato etanólico bruto das folhas de *R. viburnoides*.

em geral, à partir da 6 h após a administração (Figuras 3, 4 e 5).

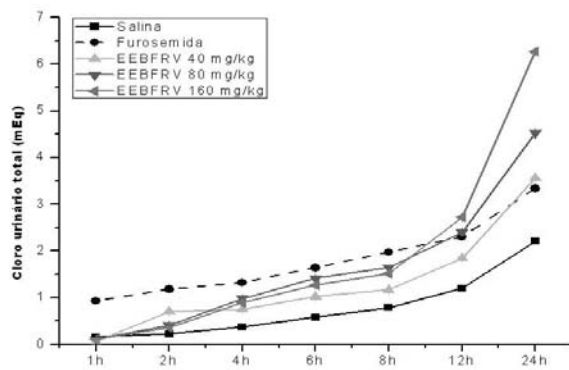
Verificou-se que a furosemida não promoveu um aumento da excreção da uréia, em relação ao grupo controle, nas 24 h de estudo. O EEBFRV promoveu um aumento da excreção deste metabólito à partir da 8<sup>a</sup> hora, acentuando-se para o grupo que recebeu a dose de 160 mg/kg, em especial na 24<sup>a</sup> hora pós-administração (Fig. 6).



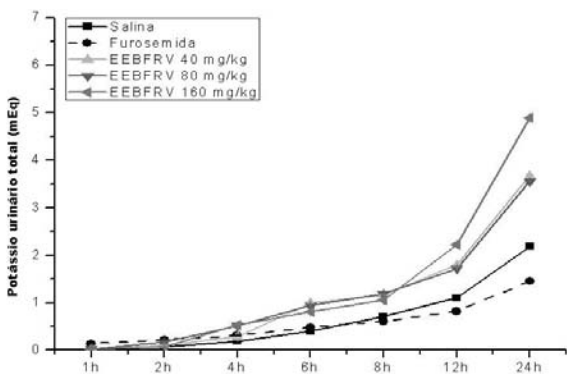
**Figura 2.** Volume de excreção urinária acumulada em 24 h, após a administração oral nos grupos em estudo. Valores expressos em média ± DP (n = 5). \*\*Estatisticamente significativo em relação à salina (p < 0,01), (ANOVA, teste de Dunnett). EEBFRV = extrato etanólico bruto das folhas de *R. viburnoides*.



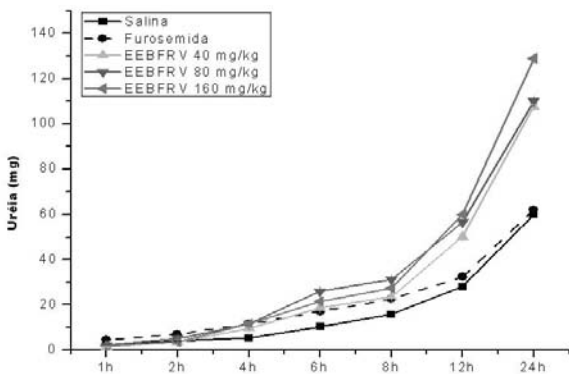
**Figura 3.** Quantidade de sódio urinário (mEq) excretado de forma cumulativa após administração oral aos grupos em estudo. Valores expressos em média  $\pm$  DP (n = 5). \*\*Estatisticamente significativo em relação à salina ( $p < 0,001$ ), (ANOVA, Teste de Dunnett). EEBFRV = extrato etanólico bruto das folhas de *R. viburnoides*.



**Figura 5.** Quantidade de cloro urinário (mEq) excretado de forma cumulativa após administração oral aos grupos em estudo. Valores expressos em média  $\pm$  DP (n=5). \*\*Estatisticamente significativo em relação à salina ( $p < 0,001$ ), (ANOVA, Teste de Dunnett). EEBFRV = extrato etanólico bruto das folhas de *R. viburnoides*.



**Figura 4.** Quantidade de potássio urinário (mEq) excretado de forma cumulativa após administração oral aos grupos em estudo. Valores expressos em média  $\pm$  DP (n = 5). \*\*Estatisticamente significativo em relação à salina ( $p < 0,001$ ), (ANOVA, Teste de Dunnett). EEBFRV = extrato etanólico bruto das folhas de *R. viburnoides*.



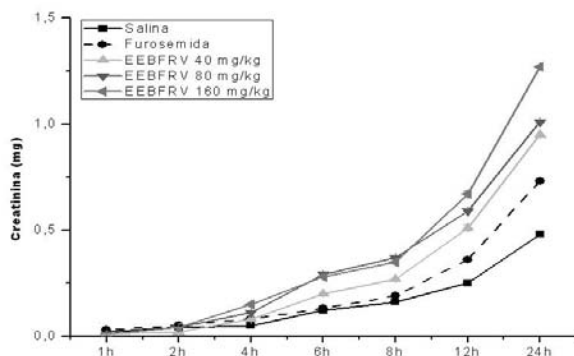
**Figura 6.** Quantidade de uréia urinária (mg) excretada de forma cumulativa após administração oral aos grupos em estudo. Valores expressos em média  $\pm$  DP (n = 5). \*\*Estatisticamente significativo em relação à salina ( $p < 0,001$ ), (ANOVA, Teste de Dunnett). EEBFRV = extrato etanólico bruto das folhas de *R. viburnoides*.

Em relação à excreção de creatinina, a furosemida promoveu maior eliminação que a salina depois da 8ª hora e o extrato à partir da 6ª hora. A partir da 8ª hora o aumento na excreção de creatinina foi proporcional a dose administrada (Fig. 7).

Em relação a uroanálise, verificou-se que o pH urinário variou de ligeiramente ácido a neutro (6,0–7,0) e a densidade variou de 1005 a 1015. Em relação aos demais parâmetros: nitritos, proteínas, glicose, cetonas, urobilinogênio, bilirrubina e hemoglobina, não foram observadas alterações patológicas.

## DISCUSSÃO

Toxicidade aguda é a bioatividade capaz de causar danos na estrutura celular ou genética dos seres vivos pouco tempo depois de uma única exposição, tipicamente de curta duração<sup>14,23</sup>. No presente experimento foi possível observar que o EEBFRV apresenta DL50 > 5000 mg/kg e pode ser enquadrada na Classe 5 ou não classificada, do sistema GHS ou seja, classe de substâncias de muito baixa toxicidade (ou praticamente atóxicas), pois não houve letalidade nas doses utilizadas nos ratos e camundongos para ambos os sexos avaliados. O *Guideline*



**Figura 7.** Quantidade de creatinina urinária (mg) excretada de forma cumulativa após administração oral aos grupos em estudo. Valores expressos em média  $\pm$  DP (n=5). \*\*Estatisticamente significativo em relação à salina ( $p < 0,001$ ), (ANOVA, Teste de Dunnett). EEBFRV = extrato etanólico bruto das folhas de *R. viburnoides*.

OECD 423 foi utilizado neste estudo como método alternativo, validado, para reduzir o número de animais em tais ensaios, ressaltando a tendência do desuso do cálculo da DL50 da forma tradicionalmente preconizada por Litchfield & Wilcoxon<sup>24</sup> e, sim, fazer a sua estimativa pelo sistema de Classes preconizada no guia 423 da OECD<sup>25</sup>.

Embora algumas espécies da família Rubiaceae apresentem elevada toxicidade para o gado<sup>26-30</sup>, a ausência de toxicidade aguda para ratos e camundongos observada nesse experimento também foi verificada por Freitas<sup>5</sup> ao estudar a *Palicourea coriacea* (douradinha) uma planta dessa família, muito utilizada popularmente por suas propriedades diuréticas.

Quanto ao estudo da atividade diurética, observou-se que a produção de urina e o volume de ingestão hídrica dos animais dos grupos experimentais, antes de qualquer tratamento, estavam dentro dos padrões fisiológicos previamente estabelecidos para ratos *Wistar*<sup>2,21,22,31</sup>, revelando assim o padrão fisiológico dos animais para o início dos experimentos (CV% = 1,85 e 5,5, para ingestão hídrica e produção de urina, respectivamente). Adicionalmente, os dados obtidos nesse teste corroboram com estudos prévios realizados por Freitas<sup>5</sup>, no mesmo grupo de pesquisa. Desta forma, pode-se verificar que, tanto a furosemida, quanto o EEBFRV nas diferentes doses, apresentou um acentuado potencial de atividade excretora urinária em relação ao do grupo administrado com salina.

Pode-se, ainda, verificar que com a administração dos EEBFRV nas diferentes doses obteve-se um incremento relativo do volume urinário

de 24 h, da ordem de 58%, 75% e 104%, respectivamente, para as doses de 40, 80 e 160 mg/kg, levando a um efeito dose-dependente, diretamente proporcional, após a administração do extrato nos grupos experimentais.

Em relação à cinética de excreção urinária em 24 h, são apresentados os volumes de excreção urinária acumulado onde a furosemida, por ser um potente diurético de alça, apresentou um rápido início do efeito (cerca de 60 min após a administração), devido à sua boa biodisponibilidade (rápida velocidade de absorção gastrointestinal, distribuição e alcance do sítio de ação pela secreção ao nível dos túbulos renais) e curta duração do mesmo<sup>32-34</sup>.

Enquanto a ação farmacológica nos grupos tratados com o EEBFRV nas diferentes doses, embora mais retardada, foi contínua, o que pode ser explicado, provavelmente, pela menor velocidade de absorção e distribuição dos princípios ativos vegetais, os quais, em relação à furosemida, podem apresentar diferenças acentuadas com relação ao caráter, pKa, lipossolubilidade, hidrossolubilidade e tamanho molecular; fatores estes decisivamente influentes nos parâmetros farmacocinéticos relacionados à absorção, distribuição e excreção de fármacos<sup>35-37</sup>.

Outras considerações farmacocinéticas podem ser levantadas em relação à maior duração deste efeito diurético, especialmente devido à possível existência de metabólitos ativos de substâncias do extrato ou o fato de que os componentes ativos teriam uma meia-vida de eliminação longa. Há, ainda, a possibilidade da ação prolongada ter sido decorrente da acumulação de princípios ativos do extrato no sítio de ação.

Considerando que a *R. viburnoides* é bastante utilizada pela população por via oral, no tratamento de várias doenças e devido à inexistência de outros estudos com essa espécie vegetal, os resultados desse experimento são de extrema importância para auxiliar no conhecimento da eficácia e da segurança do seu uso e, uma vez complementados com novos estudos (toxicidade sub-aguda, toxicidade crônica, mutagenicidade, teratogenicidade, dentre outros) poderá aumentar o grau de certeza em aceitar ou não as indicações etnofarmacológicas de tal planta, bem como auxiliar no desenvolvimento de novos fitoterápicos<sup>38-40</sup>.

## CONCLUSÕES

Quanto à toxicidade aguda oral, o extrato etanólico bruto das folhas de *R. viburnoides* é praticamente atóxico. Os animais que recebe-

ram o EEBFRV nas doses de 40 mg/kg e 80 mg/kg apresentaram ingestão hídrica semelhante à furosemida e os que receberam 160 mg/kg do referido extrato apresentaram ingestão hídrica superior, sendo o efeito diurético do EEBFRV dose-dependente, altamente significativo.

Os resultados obtidos até o momento auxiliarão na justificativa etnofarmacológica da utilização da *R. viburnoides* como diurética, ressaltando a necessidade de ensaios diuréticos em animais, em esquema de dose múltipla, e de ensaios em humanos. Acrescenta-se, ainda, a necessidade de ensaios de toxicidade (e.g.: subaguda, crônica, embriofetotoxicidade, mutagenicidade) para melhorar a segurança no uso da planta.

**Agradecimentos.** Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Universidade Federal de Goiás (UFG) e ao Laboratório de Ciências da Saúde do Centro Universitário de Brasília-DF (UNICEUB) pelo fornecimento dos animais.

#### REFERÊNCIAS

- Schenkel, E.P., G. Gosmann & P. Petrovick (2003) "Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos", in: "Farmacognosia: da planta ao medicamento", (C.M.O. Simões, E.P. Schenkel, G. Gosmann, J.C.P. Mello, L.A. Mentz & P.R. Petrovick, eds.), 5<sup>o</sup>. ed. Editora da UFRGS.
- Benjumea, D., S. Abdala & L.F. Hernandez (2005) *J. Ethnopharmacol.* **100**: 205-9.
- Teske, M. & A.M. Trentini (2001) "Herbarium: compêndio de fitoterapia". 4. ed., Curitiba.
- Morais, I.C., L.D.G. Silva, H.D. Ferreira, J.R. Paula & L.M.F. Tresvenzol (2005) *Revista Eletrônica de Farmácia* **2**: 13-16.
- Freitas, P.C.M. (2008) *Avaliação das atividades diurética e antioxidante e da toxicidade aguda do extrato etanólico bruto das folhas da Palicourea coriacea (cham.) K schum "douradinha do campo"*, 96f, Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- Alonso, J.R. (2008) "Fitomedicina: curso para profissionais da área da saúde". Pharmabooks, São Paulo.
- Tresvenzol, L.M., J.R. Paula, A.F. Ricardo, H.D. Ferreira & D.T. Zatta (2006) *Rev. Eletrôn. Farm.* **3**: 23-8. Disponível em: <<http://www.farmacologia.ufg.br/revista/geral/home.htm>>.
- Young, M.C.M., A.R. Araújo, C.A. Silva, M.N. Lopes, L.M.V. Trevisan, V.S. Bolzani (1998) *J. Nat. Prod.* **61**: 936-8.
- Balbach, A. (1980) "A flora nacional na medicina doméstica". 17. ed. São Paulo: EDEL.
- Siqueira, J.C. (1981) "Utilização popular das plantas do cerrado". São Paulo: Loyola.
- Alves, R.M.S., J.R. Stehmann, R.M.S. Isaias & M.G. L.Brandão (2004) *Rev. Bras. Farmacogn.* **14**: 49-56.
- Biazzi, E. S. (1995) "Saúde Pelas Plantas". São Paulo, Ed. Casa Publicadora Brasileira, 7.ed.
- Brandão, M.G.L. (2003) "Plantas medicinais e fitoterapia". Belo Horizonte: Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais.
- OECD – Organization for Economic Co-operation and Development (2001) "Guideline 423: Acute Oral Toxicity: Modified up-and-down procedure". Disponível em: <<http://www.oecd.org/dataoecd/17/50/194370.pdf>>. [Acesso em set. de 2007].
- SBCAL/COBEA - Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório/Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (1991) *Princípios Éticos de Experimentação Animal*. Disponível em: <[http://www.cobea.org.br/index.php?pg=Principios %20Eticos](http://www.cobea.org.br/index.php?pg=Principios%20Eticos)>, [Acesso em: 15 de abril de 2009].
- Frajblat, M., V.L.L. Amaral & E.A.B. Rivera (2006) "Bem Estar em Animais de Laboratório", in "Ética, Ciência e Desenvolvimento", (R. Christofoletti e A.A.H. Beck, orgs.) Itajaí: Editora da Universidade do Vale do Itajaí, pp. 117-28.
- Malone, M.H. & R.C. Robichaud (1962) *Lloydia* **25**: 23-53.
- Malone, R.H. (1977) "New natural products and a plant drugs with pharmacological, biological or therapeutical activity", in: "Pharmacological Approaches to Natural Products Screening and Evaluation" (H. Wagner & P. Wolff, eds.) Berlin: Springer.
- Flecknell, P. (1996) "Laboratory Animal Anesthesia". New York: Academic Press.
- Kohn, D.F, S.K. Wixson, W.J. White & G.J. Benson (1997) "Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals". New York: Academic Press.
- Lahlou, S., A. Tahraoui, Z. Israili & B. Lyoussi (2007) *J. Ethnopharmacol.* **110**: 458-63.
- Agunu, A., E.M. Abdurahman, G.O. Andrew & Z. Muhammed (2005) *Journal of Ethnopharmacology* **96**: 471-5.
- Brasil (2008) Ministério da Saúde, Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. *Portaria nº 116 de 08 de Agosto de 1996*. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/elegis>>. [Acesso em: abril 2008].
- Litchfield, J.T., F. Wilcoxon (1949) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **95**: 99-103.

25. Valadares, M.C. (2006) *Revista Eletrônica de Farmácia* **3**: 93-8.
26. Górnjak, S.L., J. Palermo-Neto, S.H. Souza (1987) "*Plantas tóxicas de interesse agropecuário: Palicourea marcgravii*. *Hora Veterinária*". Porto Alegre, v. 39, pp. 40-4.
27. Moraes, R.L.F. (1993) *Comprovação Química e Biológica da Presença de Monofluoracetato nas Folhas de Palicourea marcgravii St. Hil.* 83 f, Tese (Doutorado em Toxicologia e Análises Toxicológicas), Universidade de São Paulo, São Paulo.
28. Pott, A. & E. Afonso. "Plantas Tóxicas Para Bovinos Em Mato Grosso Do Sul". Disponível em: <<http://www.cnpqg.embrapa.br/publicacoes/divulga/GCD44.html>>. [Acesso em: out. de 2008].
29. Tokarnia, C. H., J. Döbereiner & P.V. Peixoto (2000) "*Plantas tóxicas do Brasil*". Rio de Janeiro: Ed. Helianthus.
30. Toledo, R.C.P., R.L. Ferreguti, H. Consolaro & J.V. Hay (2007) "Caracterização morfológica e isopleia de *Palicourea marcgravii* St. Hil. (Rubiaceae) no Cerrado do Brasil Central", in: CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, VIII. Anais. Caxambu/MG, pp.1-2.
31. OECD – Organization for Economic Co-operation and Development (2000) "*Guideline 32: Guidelines for the Testing of Chemicals, Guidance notes for analysis and evaluation of repeat-dose toxicity studies*". Disponível em: <<http://www.oecd.org/dataoecd/17/50/19437.pdf>>. Acesso em: set. de 2007.
32. Berndt, W.O., R.E. Stitzel (2005) "*Água, Metabolismo dos Eletrólitos e Diurético*", in: "Farmacologia Moderna", (C.R. Craig, R.E. Stitzel) 4.ed., Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, pp 191-205.
33. Lapa, A.J., C. Souccar, M.T.R. Lima-Landman, T.C.M. Lima (2001) "*Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais*". Salvador, Bahia: Sociedade Brasileira de Medicina Experimental.
34. Soares, A.S., H. Ramos, M.L. Silva, M.G.F. Neves, R.A. Westphal, S.K. Ribeiro (2005) *Equilíbrio Hídrico-Eletrolítico-Faculdade de Medicina*. Universidade Federal de Santa Catarina. Disponível em <http://www.odontologia.com.br/artigos/angle.html>. Acesso em: set. 2008.
35. Quamme, G.A. (1986) "*Loop diuretics*", in: "Diuretics: physiology, pharmacology and clinical use" (J.H. DIRKS, R.A.L. SUTTON) Philadelphia: Saunders, pp.86-116.
36. Silva, P. (2002) "*Farmacologia*". 6. Ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
37. Wilt, P.R. (1996) "*Farmacocinética*", in: "Farmacologia moderna" (C.R. Craig, R.E. Stitzel, eds.) 4<sup>a</sup>.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, pp. 51-9.
38. Brasil (2004) Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RE no 90, de 16 de março de 2004. Determina a publicação do guia para a realização de estudos de toxicidade pré-clínica de fitoterápicos. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, DF.
39. Brito, A.S. (1994) "*Manual de ensaios toxicológicos in vivo*". Campinas, SP: Editora da Unicamp.
40. Santos, A.P. (2008) *Estudo farmacognóstico, avaliação da atividade antioxidante e da toxicidade aguda dos extratos etanólicos brutos das cascas do caule e folhas de Pterodon emarginatus Vogel (Fabaceae)*, 146 f, Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia.